

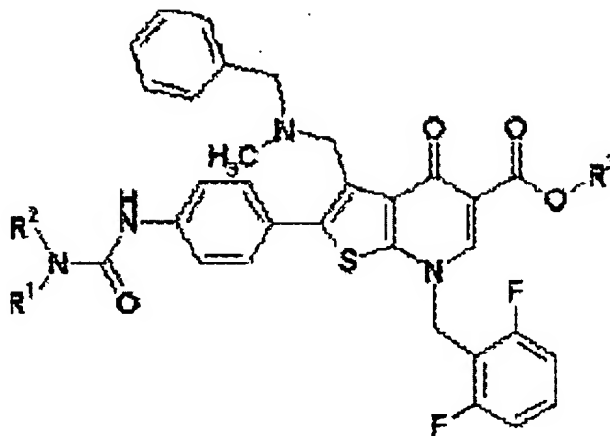
**THIENOPYRIDINE-5-CARBOXYLIC ESTER COMPOUND, METHOD FOR PRODUCING THE SAME AND USE OF THE SAME**

**Patent number:** JP2002030087  
**Publication date:** 2002-01-29  
**Inventor:** FURUYA SHUICHI; SUZUKI NOBUHIRO; KUSAKA MASAMI; IMADA MICHU; HARADA MASATAKA  
**Applicant:** TAKEDA CHEM IND LTD  
**Classification:**  
- **international:** C07D495/04; A61K31/4365; A61P5/24; A61P35/00  
- **europaean:**  
**Application number:** JP20000216030 20000717  
**Priority number(s):**

**Report a data error here**

**Abstract of JP2002030087**

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To provide a thienopyridine-5-carboxylic ester compound having gonadotropin-releasing hormone antagonism, and to provide a pharmaceutical composition containing the above compound.  
**SOLUTION:** This compound (or a salt thereof) is shown by the formula [wherein, R<sup>1</sup> is H or a 1-3C alkyl; R<sup>2</sup> is H, OH or a 1-3C alkoxy; and R<sup>3</sup> is a (substituted) 3-7C branched alkyl or (substituted) 3-7C cycloalkyl].



Data supplied from the **esp@cenet** database - Patent Abstracts of Japan

**BEST AVAILABLE COPY**

=> s jp2002-030087/pn

L2 1 JP2002-030087/PN  
(JP2002030087/PN)

=> d abs

L2 ANSWER 1 OF 1 WPIDS COPYRIGHT 2004 THE THOMSON CORP on STN

AN 2002-275651 [32] WPIDS

AB JP2002030087 A UPAB: 20020521

NOVELTY - New thienopyridine-5-carboxylic acid ester compounds (I) with gonadotropin releasing hormone (GnRH) antagonism, useful as sex hormone-dependent cancer-treating agents.

DETAILED DESCRIPTION - Thienopyridine-5-carboxylic acid ester compounds of formula (I), their salts, and pharmaceuticals (e.g., GnRH antagonists and sex hormone-dependent cancer-treating or -preventing agents) are prepared by reaction of the compounds of formula (II) or their salts with carbonyldiimidazole or phosgene followed by reaction with amines of formula HNR<sub>1</sub>R<sub>2</sub> (III) or their salts.

R<sub>1</sub> = H or 1-3C alkyl;

R<sub>2</sub> = H, hydroxy, or 1-3C alkoxy; and

R<sub>3</sub> = optionally substituted 3-7C branched alkyl or 3-7C cycloalkyl.

ACTIVITY - Cytostatic; Gynecological; Antiseborrheic;  
Dermatological; Neuroprotective; Nootropic.

MECHANISM OF ACTION - Gonadotropin releasing hormone antagonist.

USE - (I) Are useful in the prevention/treatment of sex hormone-dependent cancers (e.g., prostate gland, uterus, breast, or pituitary gland tumor), prostatic hypertrophy, hystero myoma, endometriosis, precocious puberty, anemorrhoea, premenstrual syndrome, multilocular ovarian syndrome, acne, Alzheimer's disease, and alopecia.

ADVANTAGE - The low toxic agents potentially antagonize GnRH with durable efficacy.

Dwg. 0/0

=>

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2002-30087

(P2002-30087A)

(43) 公開日 平成14年1月29日 (2002.1.29)

(51) Int.Cl. <sup>1</sup>	識別記号	F I	テマコード <sup>2</sup> (参考)
C 0 7 D 495/04	1 0 5	C 0 7 D 495/04	1 0 5 A 4 C 0 7 1
A 6 1 K 31/4365		A 6 1 K 31/4365	4 C 0 8 6
A 6 1 P 5/24		A 6 1 P 5/24	
35/00		35/00	

審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 12 頁)

(21) 出願番号 特願2000-216030 (P2000-216030)

(22) 出願日 平成12年7月17日 (2000.7.17)

(71) 出願人 000002934

武田薬品工業株式会社

大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号

(72) 発明者 古矢 修一

茨城県つくば市春日1丁目7番地9 武田  
春日ハイツ603号

(72) 発明者 鈴木 伸宏

茨城県つくば市大字谷田部1077番地の50

(72) 発明者 日下 雅美

兵庫県神戸市西区学園東町1丁目4番102  
-301号

(74) 代理人 100080791

弁理士 高島 一 (外2名)

最終頁に続く

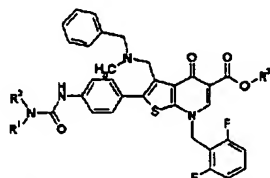
(54) 【発明の名称】 チエノピリジン-5-カルボン酸エステル化合物、その製造法および用途

(57) 【要約】

【課題】 性腺刺激ホルモン放出ホルモン拮抗作用を有するチエノピリジン-5-カルボン酸エステル化合物およびそれを含有する医薬組成物の提供。

【解決手段】 式

【化1】

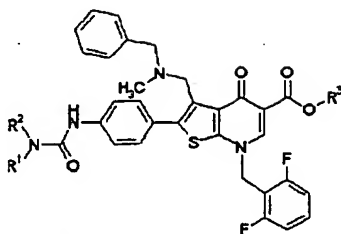


〔式中、R<sup>1</sup>は水素原子またはC<sub>1-3</sub>アルキル基、R<sup>2</sup>は水素原子、水酸基またはC<sub>1-3</sub>アルコキシ基、R<sup>3</sup>は置換されていてもよいC<sub>3-7</sub>分岐アルキル基または置換されていてもよいC<sub>3-7</sub>シクロアルキル基を示す〕で表される化合物またはその塩。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項1】式

## 【化1】



〔式中、R<sup>1</sup>は水素原子またはC<sub>1-3</sub>アルキル基、R<sup>2</sup>は水素原子、水酸基またはC<sub>1-3</sub>アルコキシ基、R<sup>3</sup>は置換されていてもよいC<sub>3-7</sub>分岐アルキル基または置換されていてもよいC<sub>3-7</sub>シクロアルキル基を示す〕で表される化合物またはその塩。

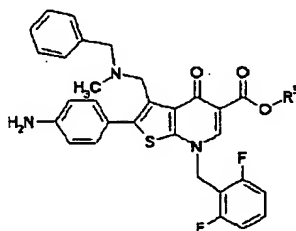
【請求項2】R<sup>1</sup>がC<sub>1-3</sub>アルキル基である請求項1記載の化合物またはその塩。

【請求項3】R<sup>2</sup>が水素原子である請求項1記載の化合物またはその塩。

【請求項4】R<sup>3</sup>がC<sub>3-7</sub>分岐アルキル基である請求項1記載の化合物またはその塩。

## 【請求項5】式

## 【化2】



〔式中、R<sup>3</sup>は請求項1記載と同意義を示す〕で表される化合物またはその塩とカルボニルジイミダゾールまたはホスゲンと反応させ、次いで

## 【化3】



〔式中、各記号は請求項1記載と同意義を示す〕で表される化合物またはその塩と反応させることを特徴とする請求項1記載の化合物またはその塩の製造法。

【請求項6】請求項1記載の化合物またはその塩を含有する医薬組成物。

【請求項7】性腺刺激ホルモン放出ホルモン拮抗剤である請求項6記載の医薬組成物。

【請求項8】性ホルモン依存性疾患予防・治療剤である請求項7記載の医薬組成物。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、性腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH (Gonadotropin releasing hormone))拮抗作用を示すチエノピリジン-5-カルボン酸エステル化合物、その製造法および用途に関する。

## 【0002】

【従来の技術】下垂体前葉ホルモンの分泌は、それぞれのホルモンの標的臓器から分泌される末梢ホルモンおよび下垂体前葉の上位中枢である視床下部から分泌される分泌促進あるいは分泌抑制ホルモン(以下、本明細書においては、これらホルモン群を視床下部ホルモンと総称する。)の調節を受けている。現在までのところ、視床下部ホルモンとして例えば甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン(TRH)あるいは性腺刺激ホルモン放出ホルモン

{GnRH (Gonadotropin releasing hormone): 黄体形成ホルモン放出ホルモン[LH-RH (Luteinizing hormone releasing hormone)]とも呼ばれる}など9種の存在が確認されている。これら視床下部ホルモンは下垂体前葉に存在すると考えられている受容体を介して、そのホルモン作用等を現すと推定されており、ヒトの場合も含め、これらに特異的な受容体遺伝子の解析が進められている。従って、これら受容体に対する特異的かつ選択的な拮抗薬あるいは作動薬は、視床下部ホルモンの作用を調節し下垂体前葉ホルモンの分泌を制御することになる。この結果として、こうした下垂体前葉ホルモン依存性の疾患に対してその予防または治療を期待することができる。GnRH拮抗作用を有するチエノピリジン化合物としては、WO 95/28405号(特開平8-295693)、WO 97/41126(特開平10-36373)、WO 00/00493などに記載の化合物が挙げられる。

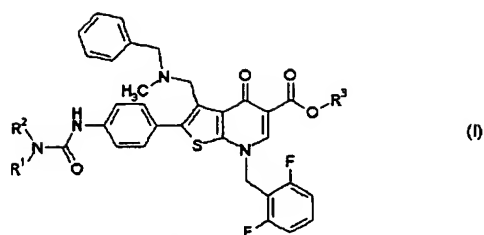
## 【0003】

【発明が解決しようとする課題】ホルモン依存性の癌、例えば前立腺癌、子宮内膜症、思春期早発症などに優れた治療効果を有し、しかも一過性の下垂体-性腺刺激作用(急性作用)を起こさない非ペプチド性の拮抗薬が強く要望されている。

## 【0004】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、鋭意探索した結果、チエノ[2,3-b]ピリジン化合物の2位フェニル基のバラ位が、式-NH-CO-NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>(式中の各記号は下記と同意義)で表される基で置換されており、更に該化合物の5位が、式-COOR<sup>3</sup>(式中の各記号は下記と同意義)で表される基で置換されていることに化学構造上の特徴を有する式

## 【化4】

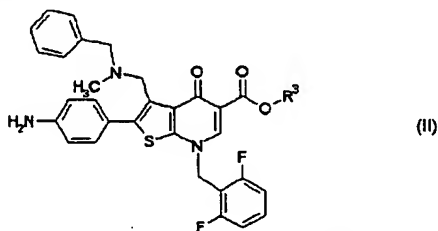


〔式中、 $R^1$ は水素原子または $C_{1-3}$ アルキル基、 $R^2$ は水素原子、水酸基または $C_{1-3}$ アルコキシ基、 $R^3$ は置換されていてもよい $C_{3-7}$ 分岐アルキル基または置換されていてもよい $C_{3-7}$ シクロアルキル基を示す〕で表される化合物（以下、化合物（I）と略記することもある）を初めて合成し、化合物（I）が式-NH-CO-NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>で表される置換基および式-COOR<sup>3</sup>で表される置換基の組み合わせにより、予想外に優れたGnRH拮抗作用、特に強力なアンタゴニスト活性を有すること、溶解性など物性面で改善が認められること、かつ、これらの化合物が毒性も極めて低く、GnRH拮抗作用を有する医薬として充分満足できるものであることを初めて見出し、これらの知見に基づいてさらに研究し、本発明を完成した。

【0005】即ち、本発明は、

- (1) 化合物（I）；
- (2)  $R^1$ が $C_{1-3}$ アルキル基である前記（1）記載の化合物またはその塩；
- (3)  $R^2$ が水素原子である前記（1）記載の化合物またはその塩；
- (4)  $R^3$ が $C_{3-7}$ 分岐アルキル基である前記（1）記載の化合物またはその塩；
- (5) 式

【化5】



〔式中、 $R^3$ は前記と同意義を示す〕で表される化合物またはその塩〔以下、化合物（II）と略記することもある〕とカルボニルジイミダゾールまたはホスゲンを反応させ、次いで

【化6】



〔式中、各記号は前記と同意義を示す〕で表される化合物またはその塩〔以下、化合物（III）と略記すること

もある〕と反応させることを特徴とする化合物（I）の製造法；

- (6) 化合物（I）を含有する医薬組成物；
- (7) 性腺刺激ホルモン放出ホルモン拮抗剤である前記（6）記載の医薬組成物；および
- (8) 性ホルモン依存性疾患予防・治療剤である前記（7）記載の医薬組成物などに関する。

【0006】上記式中の各置換基の定義を以下に記す。

$R^1$ で示される「 $C_{1-3}$ アルキル基」としては、メチル、エチル、プロピル、イソプロピルが挙げられる。このうち、メチル、エチルが好ましい。さらに好ましくはメチルである。 $R^2$ で示される「 $C_{1-3}$ アルコキシ基」としては、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシが挙げられる。このうち、メトキシ、エトキシが好ましい。さらに好ましくはメトキシである。 $R^3$ で示される「置換されていてもよい $C_{3-7}$ 分岐アルキル基」の「 $C_{3-7}$ 分岐アルキル基」としては、例えばイソプロピル、イソブチル、1-メチルペンチル、2-メチルペンチル、5-メチルヘキシル、sec-ブチル、tert-ブチル、イソペンチル、ネオペンチル、tert-ペンチル、イソヘキシル、2,4-ジメチル-3-ペンチルなどが挙げられる。このうち、イソプロピル、イソブチル、2,4-ジメチル-3-ペンチルなどが好ましい。さらに好ましくはイソプロピルである。

【0007】 $R^3$ で示される「置換されていてもよい $C_{3-7}$ 分岐アルキル基」の「置換基」としては、例えば (i) 水酸基、(ii)  $C_{1-7}$ アシルオキシ基（例、アセトキシ、プロピオニルオキシなどの $C_{1-6}$ アルキル-カルボニルオキシ；ベンゾイルオキシなど）、(iii)  $C_{1-10}$ アルコキシ基（例、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、tert-ブトキシなど）などが挙げられる。該「 $C_{3-7}$ 分岐アルキル基」は、例えば上記置換基を、置換可能な位置に1ないし3個有していてもよく、置換基数が2個以上の場合、各置換基は同一または異なっている。置換基数が2個以上の場合、各置換基は同一または異なっている。化合物（I）の好ましい具体例としては、イソプロピル {3-(N-ベンジル-N-メチルアミノ)メチル}-4,7-ジヒドロ-7-(2,6-ジフルオロベンジル)-2-[4-(3-メチルウレイド)フェニル]-オキソチエノ〔2,3-b〕ピリジン-5-カルボン酸エステル} またはその塩などが挙げられる。

【0008】化合物（I）の塩としては、生理学的に許

容される酸付加塩が好ましい。このような塩としては、例えば無機酸（例、塩酸、臭化水素酸、硝酸、硫酸、リン酸など）との塩、または有機酸（例、ギ酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、フマル酸、シュウ酸、酒石酸、マレイン酸、クエン酸、コハク酸、リンゴ酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸など）との塩などが用いられる。さらに本発明化合物が酸性基を有している場合は、無機塩基（例、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウムなどのアルカリ金属塩またはアルカリ土類金属、アンモニアなど）または有機塩基（例、トリメチルアミン、トリエチルアミン、ピリジン、ピコリン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、ジシクロヘキシルアミン、N, N'-ジベンジルエチレンジアミンなど）と生理学的に許容される塩を形成してもよい。

【0009】化合物(I)は、自体公知の方法、例えば、WO 95/28405に記載の方法またはこれに準じる方法により製造することができる。具体例としては、化合物(II)とカルボニルジイミダゾール(N, N'-カルボニルジイミダゾール; CDI)またはホスゲン(二量体および三量体も含む)等を反応させ、次いで化合物(III)を反応させ、化合物(I)を得る。化合物(II)および(III)の塩としては、例えば化合物(I)の塩と同様のものなどが挙げられる。化合物(I)は、WO 95/28405に記載の方法またはこれに準じる方法により製造することができる。化合物(II)は、市販品を用いることができる。カルボニルジイミダゾールまたはホスゲン等の使用量は、化合物(II) 1モルに対し、それぞれ約1~5モルである。化合物(II)とカルボニルジイミダゾールまたはホスゲン等との反応は、通常反応に悪影響を及ぼさない適当な溶媒中で行われる。該溶媒としては、例えば、エーテル類（例、エチルエーテル、ジオキサン、ジメトキシエタン、テトラヒドロフランなど）、芳香族炭化水素類（例、ベンゼン、トルエンなど）、アミド類（例、ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミドなど）、ハロゲン化炭化水素類（例、クロロホルム、ジクロロメタンなど）等が用いられる。反応温度は、通常、約0~50℃、好ましくは、約0~25℃である。反応時間は通常約1~12時間である。

【0010】本反応は、必要に応じて、塩基の存在下に行われる。該「塩基」としては、例えば、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸水素カリウム、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化タリウムなどの無機塩基、あるいはトリエチルアミン、ピリジンなどの有機塩基が用いられる。該「塩基」の使用量は、化合物(II) 1モルに対し、約1~5モル、好ましくは、約1~3モルである。次で行われる化合物(II)との反応条件は、化合物(II)とカルボニルジイミダゾールまたはホスゲン等とを反応させる条件と同様に

行えばよい。化合物(III)の使用量は、化合物(II) 1モルに対し、約1~10モル、好ましくは、約1~5モルである。反応温度は、通常、約0~50℃であり、好ましくは約0~25℃である。反応時間は、通常約1~12時間である。また、カルボニルジイミダゾールまたはホスゲンと化合物(III)とは、同時に化合物(I)と反応させてもよい。

【0011】本発明の化合物(I)は、自体公知の分離手段、例えば再結晶、蒸留、クロマトグラフィーなどにより単離、精製することができる。化合物(I)が遊離体で得られた場合には、自体公知の方法あるいはそれに準じる方法によって目的とする塩に変換することができる。逆に塩で得られた場合には、自体公知の方法あるいはそれに準ずる方法により、遊離体または、目的とする他の塩に変換することができる。化合物(I)は、水合物であってもよく、非水合物であってもよい。該水合物としては、例えば、1水合物、1.5水合物および2水合物などが挙げられる。化合物(I)は同位元素（例、 $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{35}\text{S}$ ）などで標識されていてもよい。

【0012】本発明の化合物(I)またはその塩（以下、「本発明化合物」と略記することもある）は、優れたGnRH拮抗作用を有し、毒性は低い。しかも、作用持続性に優れ、また、安定性および薬物動態の面でも優れている。さらに、製造も簡便である。哺乳動物（例えば、ヒト、サル、ウシ、ウマ、イヌ、ネコ、ウサギ、マウスなど）において、GnRH受容体拮抗作用により性腺刺激ホルモンの分泌を抑制し、血中の性ホルモン濃度を制御することによって、雄性ホルモンまたは雌性ホルモン依存性の疾病の治療およびこれらホルモンの過剰に起因する疾病の予防および治療に安全に用い得る。例えば、本発明化合物は、性ホルモン依存性ガン（例、前立腺ガン、子宮ガン、乳ガン、下垂体腫瘍等）、前立腺肥大症、子宮筋腫、子宮内膜症、思春期早発症、無月経症、月経前症候群、多房性卵巣症候群、ニキビ、アルツハイマー病（アルツハイマー病、アルツハイマー型老年期痴呆症およびそれらの混合型）、禿頭症などの予防および治療に有用である。また、本発明化合物は、雄性および雌性における生殖の調節（例、妊娠調節剤、月経周期調節剤等）にも有用である。本発明化合物は、さらに男性もしくは女性の避妊薬として、また女性の排卵誘発剤として使用することができる。本発明化合物は、その休薬後のリバウンド効果を利用して、不妊症の治療に使用することができる。さらに、本発明化合物は畜産分野において動物の発情の調節、食用用の肉質の改善や動物の成長促進にも有用である。本発明化合物は、また魚類の産卵促進剤としても有用である。

【0013】本発明化合物は、酢酸リユープロレリンなどのGnRH超作動薬の投与時に認められる、一過性の血中テストステロン濃度の上昇（フレアー現象）を抑制するために用いることができる。本発明化合物は、酢酸

リュープロレリン (Leuporelin)、ゴナドレリン (Gonadorelin)、ブセレリン (Buserelin)、トリプトレリン (Triptorelin)、ゴセレリン (Goserelin)、ナファレリン (Nafarelin)、ヒストレリン (Histrelin)、デスロレリン (Deslorelin)、メテレリン (Meterelin)、レシレリン (Lecirelin) などのGnRH超作動薬 (好ましくは酢酸リュープロレリン) と併用して用いることができる。また、本発明化合物は、ステロイド性または非ステロイド性の抗アンドロゲン剤または抗エストロゲン剤、化学療法剤、ペプチド性GnRH拮抗薬、5 $\alpha$ -レダクターゼ阻害薬、 $\alpha$ -受容体阻害薬、アロマターゼ阻害薬、17 $\beta$ -ヒドロキシステロイド脱水素酵素阻害薬、副腎系アンドロゲン産生阻害薬、りん酸化酵素阻害薬、ホルモン療法剤、細胞増殖因子またはその受容体の作用を阻害する薬剤などの少なくとも一種と併用することも有効である。該「化学療法剤」としては、イホスファミド (Ifosfamide)、UTF、アドリアマイシン (Adriamycin)、ペプロマイシン (Peplomycin)、シスプラチン (Cisplatin)、シクロフォスファミド (Cyclophosphamide)、5-FU、UFT、メトレキセート (Methotrexate)、マイトマイシンC (Mitomycin C)、マイトキサントロン (Mitoxantrone) などがあげられる。該「ペプチド性GnRH拮抗薬」としては、セトロレリクス (Cetrorelix)、ガニレリクス (Ganirelix)、アバレリクス (Abarelix) などの非経口投与ペプチド性GnRH拮抗薬があげられる。該「副腎系アンドロゲン産生阻害薬」としては、例えばリアーゼ (C<sub>17,20</sub>-lyase) 阻害薬などがあげられる。該「りん酸化酵素阻害薬」としては、例えばチロシンりん酸化酵素などがあげられる。該「ホルモン療法剤」としては、抗エストロゲン剤、黄体ホルモン剤 (例、MPAなど)、アンドロゲン剤、エストロゲン剤、抗アンドロゲン剤などがあげられる。

【0014】該「細胞増殖因子 (growth factors)」とは、細胞の増殖を促進する物質であればどのようなものでもよく、通常、分子量が20,000以下のペプチドで、受容体との結合により低濃度で作用が発揮される因子が挙げられ、具体的には、(1) EGF (epidermal growth factor) またはそれと実質的に同一の活性を有する物質 (例、EGF、ハレグリン (HER2リガンド) など)、(2) インシュリンまたはそれと実質的に同一の活性を有する物質 (例、インシュリン、IGF (insulin-like growth factor)-1、IGF-2など)、(3) FGF (fibroblast growth factor) またはそれと実質的に同一の活性を有する物質 (例、aFGF、bFGF、KGF (Keratinocyte Growth Factor)、HGF (Hepatocyte Growth Factor)、FGF-10など)、(4) その他の細胞増殖因子 (例、CSF (colony stimulating factor)、EPO (erythropoietin)、IL-2 (interleukin-2)、NGF (nerve growth factor)、

PDGF (platelet-derived growth factor)、TGF $\beta$  (transforming growth factor $\beta$ ) など) などがあげられる。該「細胞増殖因子の受容体」としては、上記の細胞増殖因子と結合能を有する受容体であればいかなるものであってもよく、具体的には、EGF受容体、ハレグリン受容体 (HER2)、インシュリン受容体-1、インシュリン受容体-2、IGF受容体、FGF受容体-1またはFGF受容体-2などがあげられる。上記細胞増殖因子の作用を阻害する薬剤としては、ハーセプチン (HER2レセプター抗体) などがあげられる。上記細胞増殖因子またはその受容体の作用を阻害する薬剤としては、例えば、ハービマイシン、PD153035 (Science 265 (5175) p1093, (1994)) などがあげられる。

【0015】また、細胞増殖因子またはその受容体の作用を阻害する薬剤としてHER2阻害剤もあげられる。HER2阻害剤としては、HER2の活性 (例、リン酸化活性) を阻害する物質であれば、抗体、低分子化合物 (合成化合物、天然物)、アンチセンス、HER2リガンド、ハレグリンまたはこれらの構造を一部修飾、改変したものの何れであってもよい。また、HER2レセプターを阻害することによりHER2活性を阻害する物質 (例、HER2レセプター抗体) であってもよい。HER2阻害作用を有する低分子化合物としては、例えば、WO 98/03505に記載の化合物、具体的には1-[3-[4-[2-(E)-2-フェニルエチル]-4-オキサゾリルメトキシ]フェニル]プロピル]-1,2,4-トリアゾールなどがあげられる。前立腺肥大症に対しては、GnRH超作動薬、抗アンドロゲン剤、抗エストロゲン剤、ペプチド性GnRH拮抗薬、 $\alpha$ -レダクターゼ阻害薬、 $\alpha$ -受容体阻害薬、アロマターゼ阻害薬、17 $\beta$ -ヒドロキシステロイド脱水素酵素阻害薬、副腎系アンドロゲン産生阻害薬、りん酸化酵素阻害薬などの薬剤と本発明の化合物との併用が挙げられる。

【0016】前立腺癌に対しては、GnRH超作動薬、抗アンドロゲン剤、抗エストロゲン剤、化学療法剤 (例、イホスファミド (Ifosfamide)、UTF、アドリアマイシン (Adriamycin)、ペプロマイシン (Peplomycin)、シスプラチン (Cisplatin) など)、ペプチド性GnRH拮抗薬、アロマターゼ阻害薬、17 $\beta$ -ヒドロキシステロイド脱水素酵素阻害薬、副腎系アンドロゲン産生阻害薬、りん酸化酵素阻害薬、ホルモン療法剤 (例、エストロゲン剤 (例、DSB、EMPなど)、抗アンドロゲン剤 (例、CMAなど) など)、細胞増殖因子またはその受容体の作用を阻害する薬剤などの薬剤と本発明の化合物との併用が挙げられる。乳癌に対しては、GnRH超作動薬、抗エストロゲン剤、化学療法剤 (例、シクロフォスファミド (Cyclophosphamide)、5-FU、UFT、メトレキセート (Methotrexate)、ア

ドリアマイシン (Adriamycin)、マイトマイシンC (Mitomycin C)、マイトキサントロン (Mitoxantrone) など)、ペプチド性GnRH拮抗薬、アロマターゼ阻害薬、副腎系アンドロゲン産生阻害薬、りん酸化酵素阻害薬、ホルモン療法剤〔例、抗エストロゲン剤 (例、Tamoxifenなど)、黄体ホルモン剤 (例、MPAなど)、アンドロゲン剤、エストロゲン剤など〕、細胞増殖因子またはその受容体の作用を阻害する薬剤などの薬剤と本発明の化合物との併用が挙げられる。さらに、本発明化合物は、例えば中枢性薬剤〔例、抗不安薬、睡眠導入剤、精神分裂病治療剤、パーキンソン氏病治療剤、抗痴呆剤 (例、脳循環改善剤、脳代謝賦活剤など) など〕、降圧剤、糖尿病治療剤、抗高脂血症剤、栄養剤 (例、ビタミン剤など)、消化吸収促進剤、胃腸薬などと併用してもよい。上記の薬剤は、本発明化合物と同時にまたは時間差をおいて同一対象に投与してもよい。

【0017】本発明化合物を上記の疾病に対して予防および (または) 治療剤として、または畜産もしくは水産分野で使用する場合は、自体公知の方法に従い、経口投与または非経口投与のいずれも可能であり、薬学的に許容される担体と混合し、通常、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤など固形製剤として経口投与されるか、静脈内、皮下、筋肉内などに注射剤、坐剤または舌下錠などとして非経口投与される。また、舌下錠、マイクロカプセル等の徐放製剤として、舌下、皮下および筋肉内などに投与してもよい。一日の投与量は、症状の程度; 投与対象の年齢、性別、体重、感受性差; 投与の時期、間隔、医薬製剤の性質、調剤、種類; 有効成分の種類などによって異なり、特に限定されないが、例えば性ホルモン依存性ガン (例、前立腺ガン、子宮ガン、乳ガン、下垂体腫瘍等)、前立腺肥大症、子宮筋腫、子宮内膜症、思春期早発症などの治療に用いる場合、通常、哺乳動物1kg体重あたり化合物(I)を約0.01~30mg、好ましくは約0.02~10mg、更に好ましくは0.1~10mg、最も好ましくは0.1~5mg、通常1日1~4回に分けて投与する。例えばアルツハイマー病の治療に用いる場合、通常、成人に対して一日につき、化合物(I)を0.1~300mg、好ましくは約1~300mgであり、更に好ましくは約10~200mg、通常1日1~4回に分けて投与する。畜産または水産分野で使用する場合は投与量も上記に準ずるが、投与対象生物1kg体重あたり化合物(I)を約0.01~30mg、好ましくは約0.1~10mg、通常一日1~3回に分けて投与する。化合物(I)の本発明の医薬組成物中の含有量は、組成物全体の約0.01ないし100重量%である。

【0018】上記薬学的に許容される担体としては、製剤素材として慣用の各種有機あるいは無機担体物質が用いられ、固形製剤における賦形剤、滑沢剤、結合剤、崩壊剤; 液状製剤における溶剤、溶解補助剤、懸濁化剤、

等張化剤、緩衝剤、無痛化剤などとして配合される。また必要に応じて、防腐剤、抗酸化剤、着色剤、甘味剤などの製剤添加物を用いることもできる。上記賦形剤の好適な例としては、例えば乳糖、白糖、D-マンニトール、デンプン、結晶セルロース、軽質無水ケイ酸などが挙げられる。上記滑沢剤の好適な例としては、例えばステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、タルク、コロイドシリカなどが挙げられる。上記結合剤の好適な例としては、例えば結晶セルロース、白糖、D-マンニトール、デキストリン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルピロリドンなどが挙げられる。上記崩壊剤の好適な例としては、例えばデンプン、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、クロスカルメロースナトリウム、カルボキシメチルスターチナトリウムなどが挙げられる。上記溶剤の好適な例としては、例えば注射用水、アルコール、プロピレングリコール、マクロゴール、ゴマ油、トウモロコシ油などが挙げられる。上記溶解補助剤の好適な例としては、例えばポリエチレングリコール、プロピレングリコール、D-マンニトール、安息香酸ベンジル、エタノール、トリスアミノメタン、コレステロール、トリエタノールアミン、炭酸ナトリウム、クエン酸ナトリウムなどが挙げられる。上記懸濁化剤の好適な例としては、例えばステアリルトリエタノールアミン、ラウリル硫酸ナトリウム、ラウリルアミノプロピオン酸、レシチン、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、モノステアリン酸グリセリン、などの界面活性剤; 例えばポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロースなどの親水性高分子などが挙げられる。上記等張化剤の好適な例としては、例えば塩化ナトリウム、グリセリン、D-マンニトールなどが挙げられる。上記緩衝剤の好適な例としては、例えばリン酸塩、酢酸塩、炭酸塩、クエン酸塩などの緩衝液などが挙げられる。無痛化剤の好適な例としては、例えばベンジルアルコールなどが挙げられる。上記防腐剤の好適な例としては、例えばパラオキシ安息香酸エステル類、クロロブタノール、ベンジルアルコール、フェネチルアルコール、デヒドロ酢酸、ソルビン酸などが挙げられる。上記抗酸化剤の好適な例としては、例えば亜硫酸塩、アスコルビン酸などが挙げられる。

【0019】本発明化合物に、懸濁化剤、溶解補助剤、安定化剤、等張化剤、保存剤などを添加し、自体公知の方法により静脈、皮下、筋肉内注射剤とすることができ、その際必要により自体公知の方法により凍結乾燥物とすることも可能である。本発明化合物を例えばヒトなどの哺乳動物に投与する場合は、それ自体あるいは適宜の薬理学的に許容される担体、賦形剤、希釈剤と混合



し、医薬組成物として経口的または非経口的に安全に投与することができる。上記医薬組成物としては、経口剤（例、散剤、顆粒剤、カプセル剤、錠剤）、注射剤、点滴剤、外用剤（例、経鼻投与製剤、経皮製剤など）、坐剤（例、直腸坐剤、膣坐剤）などが挙げられる。これらの製剤は、製剤工程において通常一般に用いられる自体公知の方法により製造することができる。

【0020】本発明化合物は分散剤（例、ツween 80（アトラスパウダー社製、米国）、HOC60（日光ケミカルズ製）ポリエチレングリコール、カルボキシメチルセルロース、アルギン酸ナトリウムなど）、保存剤（例、メチルパラベン、プロピルパラベン、ベンジルアルコールなど）、等張化剤（例、塩化ナトリウム、マンニトール、ソルビトール、ブドウ糖など）などと共に水性注射剤に、あるいはオリーブ油、ゴマ油、綿実油、コーン油などの植物油、プロピレングリコールなどに溶解、懸濁あるいは乳化して油性注射剤に成形し、注射剤とすることができる。

【0021】経口投与製剤とするには、自体公知の方法に従い、本発明化合物を例えば賦形剤（例、乳糖、白糖、デンプンなど）、崩壊剤（例、デンプン、炭酸カルシウムなど）、結合剤（例、デンプン、アラビアゴム、カルボキシメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、ヒドロキシプロピルセルロースなど）または滑沢剤（例、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ポリエチレングリコール6000など）などを添加して圧縮成形し、次いで必要により、味のマスキング、腸溶性あるいは持続性の目的のため自体公知の方法でコーティングすることにより経口投与製剤とすることができる。そのコーティング剤としては、例えばヒドロキシプロピルメチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリオキシエチレングリコール、ツween 80、ブルロニック F68、セルロースアセテートフタレート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、ヒドロキシメチルセルロースアセテートサクシネート、オイドラギット（ローム社製、ドイツ、メタアクリル酸・アクリル酸共重合）および色素（例、ベンガラ、二酸化チタン等）などが用いられる。腸溶性製剤とする場合、腸溶相と薬剤含有相との間に両相の分離を目的として、自体公知の方法により中間相を設けることもできる。

【0022】外用剤とするには、自体公知の方法に従い、本発明化合物またはその塩を固状、半固状または液状の外用投与剤とすることができる。例えば、上記固状のものとしては、本発明化合物またはその塩をそのまま、あるいは賦形剤（例、グリコール、マンニトール、デンプン、微結晶セルロースなど）、増粘剤（例、天然ガム類、セルロース誘導体、アクリル酸重合体など）などを添加、混合して粉状の組成物とする。上記液状のものとしては、注射剤の場合とほとんど同様で、油性ある

いは水性懸濁剤とする。半固状の場合には、水性または油性のゲル剤、あるいは軟膏状のものがよい。また、これらはいずれも、pH調節剤（例、炭酸、リン酸、クエン酸、塩酸、水酸化ナトリウムなど）、防腐剤（例、パラオキシ安息香酸エステル類、クロロブタノール、塩化ベンザルコニウムなど）などを加えてもよい。例えば坐剤とするには、自体公知の方法に従い、本発明化合物またはその塩を油性または水性の固状、半固状あるいは液状の坐剤とすることができる。上記組成物に用いる油性基剤としては、例えば高級脂肪酸のグリセリド（例、カカオ脂、ウイテプゾル類（ダイナマイトノーベル社製、ドイツ）など）、中級脂肪酸（例、ミグリオール類（ダイナマイトノーベル社製、ドイツ）など）、あるいは植物油（例、ゴマ油、大豆油、綿実油など）などが挙げられる。また、水性基剤としては、例えばポリエチレングリコール類、プロピレングリコール、水性ゲル基剤としては、例えば天然ガム類、セルロース誘導体、ビニール重合体、アクリル酸重合体などが挙げられる。

#### 【0023】

【発明の実施の形態】以下に参考例、実施例、製剤例および試験例を挙げて、本発明を更に具体的に説明するが、これによって本発明が限定されるものではない。<sup>1</sup> H-NMRスペクトルは内部基準としてテトラメチルシランを用いてバリアンGEMINI 200 (200 MHz) 型スペクトルメーター、日本電子 (JEOL) LAMBDA 300 (300 MHz) 型スペクトルメーターあるいはブルッカ AM 500 (500 MHz) 型スペクトルメーターで測定し、全 $\delta$ 値をppmで示す。本明細書中で用いる記号は次のような意味を示す。

s : シングレット

d : ダブルレット

t : トリプレット

dt : ダブルトリプレット

m : マルチプレット

br : 幅広い

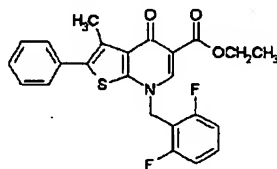
室温下とは、約15～25℃の範囲を示すが、特に厳密に限定されるものではない。

#### 【0024】

##### 【実施例】参考例1

7-(2,6-ジフルオロベンジル)-4-ヒドロキシ-2-フェニル-3-メチルチエノ[2,3-b]ピリジン-5-カルボン酸エチルエステル

##### 【化7】



WO 95/28405号に記載の方法で製造した4-

ヒドロキシ-2-フェニル-3-メチルチエノ〔2, 3-b〕ピリジン-5-カルボン酸エチルエステル (3.1 g, 100mmol) のDMF溶液 (100ml) に、炭酸カリウム (13.8 g, 100mmol) とよう化カリウム (8.30 g, 50mmol) を加え、これに氷冷下で、2, 6-ジフルオロベンジルクロライド (17.9 g, 110mmol) のDMF溶液を滴下して加えた。室温で一晩攪拌した後、反応液を水にあげ、クロロホルムで2回抽出した。有機層をあわせて乾燥 ( $\text{MgSO}_4$ ) 後、溶媒を減圧下に留去した。得られた残さをクロロホルム-酢酸エチル-エーテルから再結晶して表題化合物を無色針状晶 (39.4 g, 90%) として得た。

mp: 171-173°C.

元素分析値  $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{NO}_3\text{SF}_2$  として

C (%) H (%) N (%)

計算値: 65.59; 4.36; 3.19

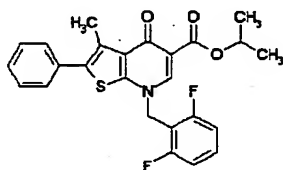
実測値: 65.52; 4.39; 3.06

$^1\text{H-NMR}$  (200MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.41 (3H, t,  $J=6.9\text{Hz}$ ), 2.68 (3H, s), 4.40 (2H, q,  $J=6.9\text{Hz}$ ), 5.26 (2H, s), 7.00 (2H, t,  $J=10.8\text{Hz}$ ), 7.34-7.48 (6H, m), 8.39 (1H, s).

【0025】参考例2

3-メチル-4, 7-ジヒドロ-7-(2, 6-ジフルオロベンジル)-2-フェニル-4-オキソチエノ〔2, 3-b〕ピリジン-5-カルボン酸イソプロピルエステル

【化8】



参考例1で得られた化合物 (65.9 g, 150mmol) のジクロロメタン溶液 (200ml) に、イソプロピルアルコール (200ml) を加え、これにオルトチタン酸テトライソプロピル (5.68 g, 50mmol) を加えた。70°Cで1時間攪拌した後、反応液を水にあげ、クロロホルムで2回抽出した。有機層をあわせて乾燥 ( $\text{MgSO}_4$ ) 後、溶媒を減圧下に留去した。得られた残さをクロロホルム-酢酸エチル-エーテルから再結晶して表題化合物を淡黄色針状晶 (61.3 g, 90%) として得た。

mp: 202-204°C.

元素分析値  $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{NO}_3\text{SF}_2$  として

C (%) H (%) N (%)

計算値: 66.21; 4.67; 3.09

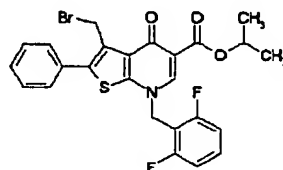
実測値: 65.88; 4.76; 3.01

$^1\text{H-NMR}$  (200MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.38 (6H, d,  $J=6.2\text{Hz}$ ), 2.68 (3H, s), 5.17-5.31 (1H, m), 5.25 (2H, s), 6.99 (2H, t,  $J=8.0\text{Hz}$ ), 7.33-7.48 (6H, m), 8.34 (1H, s).

【0026】参考例3

3-ブロモメチル-4, 7-ジヒドロ-7-(2, 6-ジフルオロベンジル)-2-フェニル-4-オキソチエノ〔2, 3-b〕ピリジン-5-カルボン酸イソプロピルエステル

【化9】



参考例2で得られた化合物 (61.2 g, 135mmol)、N-ブロモコハク酸イミド (28.8 g, 162mmol) および  $\alpha, \alpha'$ -アゾビスイソブチロニトリル (1.64 g, 10mmol) の酢酸エチル (600ml) 混合物を2時間加熱還流した。冷却後不溶物をろ去し、ろ液をクロロホルムで希釈した。有機層を食塩水で洗浄し乾燥 ( $\text{MgSO}_4$ ) 後、溶媒を減圧下に留去した。得られた残渣をクロロホルム-酢酸エチルから再結晶して表題化合物を無色針状結晶 (64.9 g, 90%) として得た。

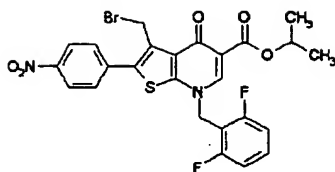
mp: 168-170°C.

$^1\text{H-NMR}$  (200MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.38 (6H, d,  $J=6.2\text{Hz}$ ), 5.05 (2H, s), 5.18-5.31 (1H, m), 5.27 (2H, s), 7.01 (2H, t,  $J=8.0\text{Hz}$ ), 7.36-7.54 (4H, m), 7.63 (2H, d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1.8Hz), 8.34 (1H, s).

【0027】参考例4

3-ブロモメチル-4, 7-ジヒドロ-7-(2, 6-ジフルオロベンジル)-2-(4-ニトロフェニル)-4-オキソチエノ〔2, 3-b〕ピリジン-5-カルボン酸イソプロピルエステル

【化10】



参考例3で得られた化合物(63.9g, 120mmol)のメタンスルホン酸溶液(360ml)に、氷冷下、硝酸ナトリウム(10.7g, 126mmol)を加えた。10℃で2時間攪拌した後、反応液を氷水にあげクロロホルムで抽出した。抽出液をあわせて食塩水で洗浄し乾燥(MgSO<sub>4</sub>)後、溶媒を減圧下に留去した。得られた残さをエーテルで結晶化し、表題化合物を黄色粉末(55.4g, 80%)として得た。

mp: 145-147℃.

<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.38 (6H, d, J=6.2Hz), 5.03 (2H, s), 5.18-5.29 (1H, m), 5.29 (2H, s), 7.04 (2H, t, J=8.0Hz), 7.38-7.53 (1H, m), 7.85 (2H, d, J=9.2Hz), 8.36 (2H, d, J=9.2Hz), 8.41 (1H, s).

【0028】参考例5

3-(N-メチル-N-ベンジルアミノメチル)-4,

元素分析値 C<sub>33</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>SF<sub>2</sub> · 0.25H<sub>2</sub>O として

	C (%)	H (%)	N (%)
計算値:	63.70	4.78	6.75
実測値:	63.63	4.85	6.50

<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.37 (6H, d, J=6.2Hz), 2.18 (3H, s), 3.67 (2H, s), 4.21 (2H, s), 5.18-5.31 (1H, m), 5.28 (2H, s), 7.03 (2H, t, J=8.0Hz), 7.12-7.26 (5H, m), 7.36-7.51 (1H, m), 8.09 (2H, d, J=8.8Hz), 8.26 (2H, d, J=8.8Hz), 8.33 (1H, s).

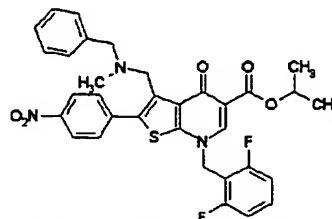
【0029】参考例6

3-(N-メチル-N-ベンジルアミノメチル)-4, 7-ジヒドロ-7-(2,6-ジフルオロベンジル)-2-(4-アミノフェニル)-4-オキソチエノ〔2,3-b〕ピリジン-5-カルボン酸イソプロピルエステル

【化12】

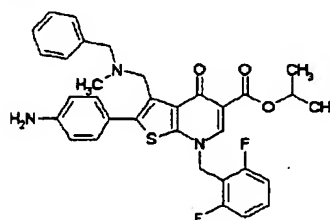
7-ジヒドロ-7-(2,6-ジフルオロベンジル)-2-(4-ニトロフェニル)-4-オキソチエノ〔2,3-b〕ピリジン-5-カルボン酸イソプロピルエステル

【化11】



参考例4で得られた化合物(55.4g, 80mmol)のジメチルホルムアミド(400ml)溶液に、氷冷下、ジイソプロピルエチルアミン(11.4g, 88mmol)およびN-メチルベンジルアミン(10.2g, 88mmol)を加えた。室温で18時間攪拌した後、反応液を濃縮して得られる残さを酢酸エチルと飽和重曹水で分配した。水層を酢酸エチルで抽出し、有機層をあわせて乾燥(MgSO<sub>4</sub>)後、溶媒を減圧下に留去した。得られた残さをエーテルから再結晶し、表題化合物を黄色粉末結晶として得た。

mp: 146-148℃.



参考例5で得られた化合物(30.9g, 50mmol)のイソプロピルアルコール(50ml)混合液に、水(1ml)を加え、1滴の濃塩酸を滴下して均一溶液とした。これに鉄粉(11.2g, 200mmol)および濃塩酸(50ml, 6.00mmol)を滴下しながら加えた。滴下終了後、1時間氷冷下で攪拌した。得られた残渣を氷水にあげ重曹で中和し、酢酸エチルを加えて攪拌し、セライトろ過した。有機層を分取し、食塩水で洗浄し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)後、溶媒を減圧下に留去した。得られた残さをクロロホルム-エーテルで結晶化して、表題化合物を黄色粉末結晶(28.6g, 97%)として得た。

mp: 106-108℃.

元素分析値  $C_{11}H_{11}N_2O_4SF_2$  として

C (%) H (%) N (%)

計算値: 65.44 ; 5.49 ; 6.94

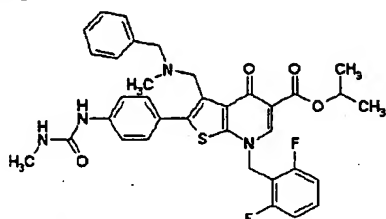
実測値: 65.40 ; 5.52 ; 6.73

$^1H$ -NMR (300MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 1.36 (6H, d,  $J=6.2$ Hz), 2.10 (3H, s), 3.65 (2H, s), 3.84 (2H, s), 4.14 (2H, s), 5.17-5.30 (1H, m), 5.24 (2H, s), 6.72 (2H, d,  $J=8.4$ Hz), 7.00 (2H, t,  $J=8.0$ Hz), 7.12-7.26 (5H, m), 7.30-7.48 (1H, m), 7.62 (2H, d,  $J=7.8$ Hz), 8.28 (1H, s).

#### 【0030】実施例1

3-(N-メチル-N-ベンジルアミノメチル)-4,7-ジヒドロ-7-(2,6-ジフルオロベンジル)-2-[4-(3-メチルウレイド)フェニル]-4-オキソチエノ[2,3-b]ピリジン-5-カルボン酸イソプロピルエステル

#### 【化13】



参考例6で得られた化合物 (27.8g, 48mmol) およびトリエチルアミン (10.1g, 100mmol) を含むジクロロメタン (200ml) 溶液に、N, N'-カルボニルジイミダゾール (11.7g, 72mmol) を加え氷冷下、攪拌した。室温に戻し更に8時間攪拌後、再度氷冷し、2N-メチルアミンテトラヒドロフラン溶液 (60ml, 120mmol) を加えた。室温に戻しながら1時間攪拌した後、反応液を水 (400ml) で希釈後、クロロホルム (400ml) で抽出した。水層は、再度クロロホルム (100ml) で抽出した。抽出液をあわせて食塩水で洗浄し、乾燥 ( $MgSO_4$ ) 後、溶媒を減圧下に留去した。得られた残さをシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、得られた残さをクロロホルム-イソプロパノールより再結晶し、表題化合物を無色針状結晶 (24.9g, 80%) として得た。

mp: 204-206°C.

元素分析値  $C_{21}H_{21}N_5O_4SF_2$  として

C (%) H (%) N (%)

計算値: 64.30 ; 5.40 ; 8.57

実測値: 64.54 ; 5.57 ; 8.44

$^1H$ -NMR (300MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 1.33 (6H, d,  $J=6.2$ Hz), 1.95 (3H,

s), 2.83 (3H, d,  $J=4.4$ Hz), 3.47 (2H, s), 4.04 (2H, s), 5.16-5.29 (1H, m), 5.25 (2H, s), 6.32-6.48 (1H, br), 6.98 (2H, t,  $J=8.0$ Hz), 6.97-7.12 (5H, m), 7.32-7.47 (1H, m), 7.49 (2H, d,  $J=8.4$ Hz), 7.60 (2H, d,  $J=8.4$ Hz), 8.36 (1H, s), 8.40 (1H, s).

#### 【0031】製剤例1

実施例1で製造した化合物 (100mg)、ラクトース (165mg)、コーンスターチ (25mg)、ポリビニールアルコール (4mg) およびステアリン酸マグネシウム (1mg) を用いて、常法により錠剤を製造する。

#### 【0032】試験例1

##### (1) $^{125}I$ -リユープロレリンの調製

$3 \times 10^{-4}M$  リユープロレリン水溶液 10 $\mu$ l および 0.01mg/ml ラクトパーオキシダーゼ 10 $\mu$ l をチューブにとり、 $Na^{125}I$  溶液を 10 $\mu$ l (37MBq) 加え、攪拌後、0.001%  $H_2O_2$  10 $\mu$ l を加えて、室温で20分間反応させた。0.05%トリフロロ酢酸 (TFA) 溶液を 700 $\mu$ l 加えて反応を停止し、逆相HPLCにより精製した。HPLCの条件を以下に示す。 $^{125}I$ -リユープロレリンは、保持時間26~27分で溶出された。カラム: TSK gel ODS-80 $^{TM}$  (TMは登録商標であることを示す。以下同様。)

CTR (4.6mmx10cm) 溶離液:

溶媒A (0.05%TFA)

溶媒B (40% $CH_3CN$ -0.05%TFA)

0分 (100%溶媒A) - 3分 (100%溶媒A) - 7分 (50%溶媒A+50%溶媒B) - 40分 (100%溶媒B)

溶出温度: 室温

溶出速度: 1ml/min

##### 【0033】(2) ラットGnRHレセプターを含有する下垂体前葉膜画分の調製

ウイスターラット (8週令、雄性) 40匹から下垂体前葉を摘出し、氷冷したホモジネートバッファー (25mM Tris [トリス (ヒドロキシメチル) アミノメタン]-HCl)、0.3M サッカロース、1mM EGTA (グリコールエーテルジアミン四酢酸)、0.25mM PMSF (フッ化フェニルメチルスルホニル)、10U/ml アプロチニン、1 $\mu$ g/ml ペプスタチン、20 $\mu$ g/ml ロイペプチン、100 $\mu$ g/ml フォスホラミドン および 0.03% アジ化ナトリウム; pH7.5) で洗浄した。ホモジネートバッファー 2ml に下垂体を浮遊させ、ポリトロンホモジナイザーを用いてホモジネートした。700xgで1

5分遠心し、上清を超遠心管に採取し100,000×gで1時間遠心し、膜面分の沈澱物を得た。この沈澱物に2mlのアッセイバッファー(25mM Tris-HCl、1mM EDTA(エチレンジアミン四酢酸)、0.1% BSA(ウシ血清アルブミン)、0.25mM PMSF、1μg/ml ペプスタチン、20μg/ml ロイペプチン、100μg/ml フォスフォラミドン および 0.03% アジ化ナトリウム; pH7.5)を加えて懸濁し、100,000×gで1時間遠心した。沈澱物として回収された膜面分を再び10mlのアッセイバッファーに懸濁し、分注して、-80℃で保存し、使用の都度解凍して用いた。

【0034】(3) ヒトGnRHレセプターを含有するCHO(チャイニーズハムスター卵巣)細胞膜面分の調製

ヒトGnRHレセプター発現CHO細胞(10<sup>8</sup>個)を5mM EDTAを添加したリン酸緩衝生理食塩水(PBS-EDTA)に浮遊させ、100×gで5分間遠心した。細胞のペレットに細胞用ホモジネートバッファー(10mM NaHCO<sub>3</sub> および5mM EDTA; pH7.5)を10ml加え、ポリトロンホモジナイザーを用いてホモジネートした。400×gで15分遠心し、上清を超遠心管に取り100,000×gで1時間遠心し、膜面分の沈澱物を得た。この沈澱物を2mlのアッセイバッファーに懸濁し、100,000×gで1時間遠心した。沈澱物として回収された膜面分を再び20mlのアッセイバッファーに懸濁し、分注して、-80℃で保存し、使用の都度解凍して用いた。

【0035】(4) <sup>125</sup>I-リユープロレリン結合阻害率の測定

上記(2)および(3)で調製したラットおよびヒトの

膜面分をアッセイバッファーで希釈して、200μg/mlとし、チューブに188μlずつ分注した。ラット下垂体前葉膜面分を使用した場合、60%のDMSO(ジメチルスルホキシド)に溶解した種々の濃度の化合物(実施例1で得られた化合物)2μlと、38nMの<sup>125</sup>I-リユープロレリン10μlとを同時に添加した。ヒトGnRHレセプター発現CHO細胞膜面分を使用した場合、60%のDMSOに溶解した種々の濃度の化合物(実施例1で得られた化合物)2μlと、38nMの<sup>125</sup>I-リユープロレリン10μlとを同時に添加した。最大結合量を測定するために、60%のDMSO 2μlおよび38nMの<sup>125</sup>I-リユープロレリン10μlを添加した反応液を調製した。また、非特異的結合量を測定するために、60%のDMSOに溶解した100μMのリユープロレリン2μlおよび38nMの<sup>125</sup>I-リユープロレリン10μlを添加した反応液も同時に調製した。ラット下垂体前葉膜面分を使用した場合、4℃で90分反応させ、ヒトGnRHレセプター発現CHO細胞膜面分を使用した場合、25℃で60分反応させた。反応後、ポリエチレンイミン処理したワットマングラスフィルター(GF-F)を用いて反応液を吸引ろ過した。ろ過後、γ-カウンターを用いてろ紙に残った<sup>125</sup>I-リユープロレリンの放射活性を測定した。

(TB-SB)/(TB-NSB)×100 (SB:化合物を加えたときの放射活性、TB:最大結合放射活性、NSB:非特異結合放射活性)を計算して、各化合物の結合阻害率(%)を求めた。また、化合物の濃度を変化させて阻害率を求め、50%結合を阻害する被検物質の濃度(IC<sub>50</sub>値)をHillプロットより算出した。結果を以下に示す。

化合物	結合阻害率(%)		IC <sub>50</sub> 値(μM)	
	ラット(1μM)	ヒト(20μM)	ラット	ヒト
実施例1	90	NT	0.04	0.00008

NT:未測定

#### 【0036】試験例2

正常サルの血中テストステロンの抑制

実施例1で得られた化合物を、雄性カニクイザルに皮下投与し血中テストステロン濃度を測定した。雄性カニクイザルは、実験時6.7kgから7.4kgの体重のものをを用いた。被験動物(n=3)に、グルクロニルグルコシル-β-シクロデキストリンで可溶化させた化合物を30mg/kg皮下投与した。投与前、投与後3、6、12、24、30時間後に血液を前腕静脈より採取して血清を調製した後、速やかに冷凍保存した。血中のテストステロン濃度はラジオイムノアッセイ法(CIS Diagnostics社)で測定した。結果を〔図1〕にまとめて示す。各測定値は、平均値±標準誤差で

示した。化合物は実施例1で得られた化合物を意味する。対照は同じ動物(n=3)に化合物を含まない可溶化液のみを皮下投与した場合の値である。対照において、血中テストステロン濃度は日内変動を示し、持続した低下は認められなかった。一方、化合物投与群においては、投与直後から、血中のテストステロン濃度の緩やかな持続低下が観測され、投与30時間後には、ほぼ去勢レベルに達した。投薬により日内変動は消失した。以上の結果から、実施例1で得られた化合物が、皮下投与において顕著な血中のテストステロン濃度低下作用を有することが示された。この結果より、本発明の化合物が、下垂体に存在するGnRH(LH-RH)受容体においてLH-RHと拮抗することにより、下垂体からのLH/FSHの分泌作用を抑制し、これらを介するテス

トステロンの産生を抑制することがわかる。

【0037】

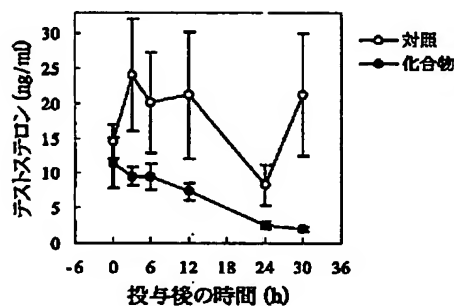
【発明の効果】本発明化合物は、優れた性腺刺激ホルモン放出ホルモン拮抗作用を有する。さらに、経口吸収性がよく、安定性、薬物動態の面でも優れている。また、各種有機溶媒に対する溶解性が良く、例えば徐放性注射剤などの調製も容易である。毒性も低く安全性の面でも優れている。また、動物種による薬効差がほとんど無い特徴もある。従って、例えばホルモン依存性疾患の予防または治療剤として用いることができる。具体的には、例えば医薬として性ホルモン依存性ガン（例、前立腺ガン、子宮ガン、乳ガン、下垂体腫瘍等）、前立腺肥大

症、子宮筋腫、子宮内膜症、思春期早発症、無月経症候群、多房性卵巣症候群、ニキビ、アルツハイマー病、禿頭症などの予防または治療剤として、あるいは妊娠調節剤（例、避妊剤等）、不妊症治療剤、月経調節剤として有効であり、さらに、畜産分野で、動物の発情の調節、食肉用の肉質の改善、動物の成長調節、水産分野において魚類の産卵促進剤としても有効である。

【図面の簡単な説明】

【図1】被検サル血清中のテストステロン濃度を示す。図中、—○—は対象対照群を、—●—は化合物投与群をそれぞれ示す。

【図1】



フロントページの続き

(72)発明者 今田 岐  
大阪府池田市五月丘5丁目1番地3 武田  
薬品五月丘寮内  
(72)発明者 原田 征隆  
茨城県つくば市東2丁目14番地5 仕黒マ  
ンション201

Fターム(参考) 4C071 AA01 BB01 CC01 CC21 DD12  
EE12 FF06 GG05 HH08 HH28  
JJ01 LL01  
4C086 AA01 AA02 AA03 AA04 CB29  
MA01 MA04 NA14 ZB26 ZC02

BEST AVAILABLE COPY